

Cosmetic and/or dermatological composition containing a derivative of methylated silanol and a derivative of hydrolysed plant protein

Publication number: CN1259043 (A)

Also published as:

Publication date: 2000-07-05

 FR2761607 (A1)

Inventor(s): FRUCTUS A E [GB]; MONTET F [GB]; LAZAR G [GB]

 ZA9802748 (A)

Applicant(s): BOOTS CO PLC [GB]

 US2002025303 (A1)

Classification:

 TR9902428 (T2)

- international: A61K8/00; A01N37/18; A61K8/04; A61K8/06; A61K8/37; A61K8/41; A61K8/55; A61K8/58; A61K8/60; A61K8/64; A61K8/67; A61K8/891; A61K8/892; A61K8/893; A61K8/96; A61K8/97; A61K8/99; A61K31/695; A61K31/74; A61K36/00; A61K38/00; A61Q19/00; A61Q19/08; C08L83/04; A61K8/00; A01N37/18; A61K8/04; A61K8/30; A61K8/72; A61K8/96; A61K31/695; A61K31/74; A61K36/00; A61K38/00; A61Q19/00; A61Q19/08; C08L83/00; (IPC1-7): A61K7/48

more >>

- European: A61Q19/08; A61K8/06F; A61K8/37; A61K8/58C; A61K8/60; A61K8/64C; A61K8/67C; A61K8/67H; A61K8/67L; A61K8/891; A61K8/892; A61K8/893; A61Q19/00

Application number: CN19988005783 19980331

Priority number(s): FR19970004167 19970404

Abstract not available for CN 1259043 (A)

Abstract of corresponding document: **FR 2761607 (A1)**

The invention relates to a dermatological and/or cosmetic composition for treating symptoms of skin ageing comprising a combination of at least one derivative of methylated silanol and at least one derivative of hydrolysed plant protein. More particularly, the derivative of methylated silanol is methylsilanol manuronate and the derivative of hydrolysed plant protein is an extract of hydrolysed wheat protein. The composition can also further contain (a) vitamin C and/or one or a plurality of its derivatives, for example magnesium ascorbyl phosphate, (b) vitamin E and/or one or a plurality of its derivatives and/or, (c) vitamin A and/or one or a plurality of its derivatives and/or, (d) oligopeptides or their derivatives and/or, (e) vegetable oils extracted from *Helianthus annuus* and/or *Hedera helix* and/or, (f) phytic acid.

Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int.Cl⁷

A61K 7/48

[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 98805783.2

[43]公开日 2000年7月5日

[11]公开号 CN 1259043A

[22]申请日 1998.3.31 [21]申请号 98805783.2

[30]优先权

[32]1997.4.4 [33]FR [31]9704167

[86]国际申请 PCT/EP98/02115 1998.3.31

[87]国际公布 WO98/44904 英 1998.10.15

[85]进入国家阶段日期 1999.12.3

[71]申请人 布茨公司

地址 英国英格兰诺丁汉

[72]发明人 A·E·弗鲁克图斯 F·蒙泰

G·拉扎尔

N·S·托克戈兹

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 王景朝 王其灏

权利要求书2页 说明书23页 附图页数2页

[54]发明名称 含有甲基化硅烷醇衍生物和水解植物蛋白衍生物的美容用和/或皮肤病用组合物

[57]摘要

本发明涉及用于治疗皮肤衰老症状的皮肤病用和/或美容用组合物,其中含有至少一种甲基化硅烷醇衍生物和至少一种水解植物蛋白衍生物。更具体地说,甲基化硅烷醇衍生物是甲基硅烷醇甘露糖醛酸 酯,水解植物蛋白衍生物是水解小麦蛋白的提取物。组合物还可以含有(a)维生素C和/或其一种或多种衍生物,例如抗坏血酸磷酸镁,(b)维生素E和/或其一种或多种衍生物,和/或(c)维生素A和/或其一种或多种衍生物,和/或(d)寡肽或其衍生物,和/或(e)从向日葵和/或洋常春藤中提取的植物油,和/或(f)植酸。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 用于治疗皮肤衰老症状的皮肤病用和/或美容用组合物，其中含有占组合物总重量 0.01% - 0.2% 的至少一种甲基化硅烷醇衍生物，和占组合物总重量 0.05% - 1% 的至少一种水解植物蛋白衍生物，其中所述水解植物蛋白衍生物是水解大麦蛋白、水解小麦蛋白或水解燕麦蛋白。
5
2. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述甲基化硅烷醇衍生物是甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯。
10
3. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述水解植物蛋白衍生物是水解小麦蛋白的提取物。
10
4. 根据权利要求 1-3 任一权利要求的组合物，其中组合物还含有维生素 C 和/或其一种或多种衍生物。
15
5. 根据权利要求 4 的组合物，其中所述维生素 C 衍生物是抗坏血酸磷酸镁。
15
6. 根据权利要求 1-5 任一权利要求的组合物，其中组合物还含有一种或多种从植物中提取的油和/或植酸。
20
7. 根据权利要求 6 的组合物，其中所述一种或多种油是从向日葵和/或洋常春藤中提取的，而植酸是从米糠中提取的。
20
8. 根据权利要求 1-7 任一权利要求的组合物，其中组合物还含有寡肽或其衍生物。
25
9. 根据权利要求 8 的组合物，其中所述寡肽衍生物是棕榈酰寡肽，其中的寡肽由甘氨酸、组氨酸和赖氨酸部分组成或由精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸和丝氨酸部分组成；所述寡肽是由精氨酸和赖氨酸部分组成的多肽，或所述寡肽是酵母属菌产生的多肽。
25
10. 根据权利要求 1-9 任一权利要求的组合物，其中组合物还含有维生素 E 和/或其一种或多种衍生物。
30
11. 根据权利要求 10 的组合物，其中所述维生素 E 或其衍生物是 DL-生育酚或生育酚乙酸酯。
30
12. 根据权利要求 1-11 任一权利要求的组合物，其中组合物还含有维生素 A 和/或其一种或多种衍生物。
30
13. 根据权利要求 12 的组合物，其中所述维生素 A 或其衍生物是视黄醇、乙酸视黄酯或棕榈酸视黄酯。
30

14. 根据权利要求 4 或 5 的组合物，其中按组合物重量计，维生素 C 和/或其衍生物的含量是 0.25% - 30%。

15. 根据权利要求 6 或 7 的组合物，其中按组合物重量计，一种或多种植物油和/或植酸的含量各自是约 0.005% - 0.05%。

5 16. 根据权利要求 7 的组合物，其中按组合物重量计，从向日葵中提取的油的含量是约 0.01% - 0.04%，从洋常春藤中提取的油的含量是约 0.01% - 0.04%，植酸（如果存在的话）的含量是约 0.01% - 0.04%。

10 17. 根据权利要求 10 或 11 的组合物，其中按组合物重量计，维生素 E 和/或其衍生物的含量是约 0.05% - 2%。

18. 根据权利要求 12 或 13 的组合物，其中按组合物重量计，维生素 A 和/或其衍生物的含量是约 0.02% - 1%。

15 19. 根据权利要求 1 - 18 任一权利要求的组合物，其特征在于，所述组合物呈油包水乳液、硅油包水乳液、水包油乳液、复合型水包油包水乳液或假乳液的形式。

20 20. 根据权利要求 19 的组合物，其特征在于，所述组合物呈硅油包水乳液或复合型水包油包水乳液的形式。

21. 根据权利要求 1 - 20 任一权利要求的组合物作为药品的用途。

20 22. 占组合物总重量 0.01% - 0.2% 的至少一种甲基化硅烷醇衍生物和占组合物总重量 0.05% - 1% 的至少一种水解大麦蛋白、水解小麦蛋白或水解燕麦蛋白的水解植物蛋白衍生物相结合，在制备用于治疗皮肤衰老症状，或用于治疗暴露于空气污染中的不利后果的、如权利要求 1 - 20 任一项所述的药品中的用途。

说 明 书

含有甲基化硅烷醇衍生物和水解植物蛋白衍生物的美容用 和/或皮肤病用组合物

5 本发明涉及通过阻止结缔组织蛋白的不可逆交联来处置皮肤，例如治疗皮肤衰老的症状，以及涉及将空气污染的影响降到最低限度。

衰老是由器官机能的进行性衰退导致的自然过程。在衰老过程中，每一器官尤其是结缔组织会发生极大改变。

10 例如，胶原，这一人体内最丰富的蛋白变得更不易溶解，对消化、热断裂和机械张力的抵抗力变到更强。当皮肤衰老时，胶原物理化学性质的这些改变会导致形成长期并发症，例如弹性、柔软性和张力的损失。

15 胶原是由以三螺旋形式卷曲的三条多肽链（原胶原纤维）组成的纤维蛋白。这些多肽链是等长的，并分别具有约一千个氨基酸残基。它们主要含有 35% 的甘氨酸、21% 的脯氨酸、12% 的羟脯氨酸以及 11% 的丙氨酸残基。

20 X-射线衍射分析已表明，原胶原的每一条多肽链其自身形成三螺旋形。它们之间还通过氢桥交联，并存在仅在胶原中发现的非常规型共价交联（在两条链的赖氨酸残基之间形成的）。原胶原还含有与羟赖氨酸的羟基连接的碳水化合物侧链。

25 细胞内胶原分子的合成是一个复杂过程，并需要大量细胞内和细胞外翻译后修饰。在生物合成期间，细胞内有一些赖氨酸和脯氨酸残基被羟基化，这些羟基化残基再被酶糖基化。“糖基化”表示具有 6 个碳原子的糖与蛋白质游离氨基的结合。在本领域内，这一结合还称为葡萄糖基化（或 glycation）。原胶原的这些羟基化和糖基化反应是其分泌到细胞外所必需的。一旦分泌到细胞外，原胶原链就通过共价键连接并形成具有交联的纤维网。

30 除了原胶原氨基酸基团的酶糖基化以外，在细胞外，一些赖氨酸和羟赖氨酸残基也会发生非酶糖基化。实际上，具有 6 个碳原子的糖对蛋白的游离氨基酸基团的非酶加成会导致组织的结构和功能发生变化。当这种情况发生在胶原上时，就会在胶原纤维之间形成不可逆交联，最终导致组织变硬以及皮肤失去弹性（Cerami 等人 1987）。

人们对于蛋白的非酶糖基化以及其化学后果已经了解了很长时
间，可参考食品化学中糖的所谓 Maillard 或 Browning 反应。这些
反应使糖醛或酮与蛋白质的游离氨基发生缩合，生成糖基胺（席夫
碱）。生成的产物可发生阿马多里重排反应，以生成更稳定的阿马多
里产物。然后这一产物可开始一系列脱水和重排反应，以形成具有高
度反应性的羧基化合物，此羧基化合物是由其荧光和发色团特征证实
的。这些链式反应生成的荧光团和发色团产物以推定的 Browning 产
物或 Maillard 产物（在食品化学中）所推定的糖基化反应终产物来
命名（EPEG）。EPEG 的反应性羧基能与蛋白的其它氨基形成不可逆
交联，导致蛋白的溶解度下降，这是导致衰老的原因之一（Cerami
等人 1987, Brownlee 等人 1986, Shin 等人 1988）。

阻止由非酶糖基化导致的胶原纤维之间形成不可逆交联是所有
“抗衰老”治疗所考虑要达到的目标。其中一种使用的方法在于，通
过阻滞糖基化产物的反应性羧基而使其在早期阶段失活（由阿马多里
重排反应生成的席夫碱和加成产物）。在此领域内，一些研究人员已
经用亲核性肼类化合物、氨基脲（Cerami 等人 1987, Brownlee 等人
1986）及其衍生物、胍苯并乙酸酯（guanobenzoacetate）（Lgaki
等人）进行了一些研究。另一方法的目标是，通过抗衰老治疗来阻止
蛋白之间形成交联，其在于通过活化巨噬细胞来除去 EPEG 产物
（Cerami 等人 1987）。

在日常生活中，皮肤暴露在空气污染中，例如从机动车辆或烟草
中释放出的污染空气。这些释放的污染空气可使皮肤中的水分减少，
并可导致不利的皮肤病产生。因此需要能抵抗用暴露在空气污染中产
生不利作用引起皮肤病用的和美容用的组合物。本发明的目的是提供
这种皮肤病用和美容用组合物。

本发明主要涉及甲基化硅烷醇衍生物和水解植物蛋白衍生物的
联合使用，以通过阻止结缔组织蛋白发生不可逆交联而防止皮肤衰老
症状的不利作用，以及阻止暴露于空气污染中的不利作用。

因此，本发明涉及用于治疗皮肤衰老症状和防止暴露于空气污染
不利作用的皮肤病用和美容用组合物，其中含有至少一种甲基化硅烷
醇的衍生物和至少一种水解植物蛋白的衍生物。

本发明的目的还在于，使用甲基化硅烷醇衍生物、水解植物蛋白

提取物、和维生素 C (和/或其衍生物，尤其是抗坏血酸磷酸镁) 的混合物，通过刺激新的胶原合成以及通过使新合成胶原的糖基化程度维持在恒定值，来防止皮肤衰老症状的不利作用，和防止暴露于空气污染的不利作用。

5 因此，本发明也涉及还含有维生素 C 和/或其多种衍生物的上述皮肤病用和美容用组合物。

还含有从植物，如向日葵和洋常春藤中提取的油，和/或植酸，如从米糠中提取的植酸的本发明组合物，在治疗暴露于空气污染不利作用方面具有特别好的用途。

10 因此，本发明也涉及还含有从植物，如向日葵和洋常春藤中提取的油，和/或植酸，如从米糠中提取的植酸的上述皮肤病用和美容用组合物。

15 还含有至少一种寡肽或其衍生物的本发明组合物具有额外的抗糖基化特性。合适的寡肽或其衍生物包括棕榈酰寡肽，其中的寡肽由甘氨酸、组氨酸和赖氨酸部分组成或由精氨酸、甘氨酸、天门冬氨酸和丝氨酸部分组成。

因此，本发明也涉及还含有寡肽或其衍生物的上述皮肤病用和美容用组合物。

20 本发明的另一个目的是，使用甲基化硅烷醇衍生物、水解植物蛋白提取物（尤其是水解小麦蛋白的提取物）、维生素 C (和/或其衍生物，尤其是抗坏血酸磷酸镁)、和维生素 E (和/或其衍生物) 的混合物，通过抑制游离基的生成来保护皮肤。

25 因此，本发明还涉及皮肤病用和美容用组合物，其中含有一种或多种甲基化硅烷醇衍生物、水解植物蛋白提取物（尤其是水解小麦蛋白的提取物）、维生素 C (和/或其衍生物，尤其是抗坏血酸磷酸镁)、和维生素 E (和/或其衍生物)。

30 尤其是，能用于治疗衰老症状和防止暴露于空气污染中的不利作用的本发明组合物，是由两种或两种以上的上述抗糖基化剂、维生素 C 和/或其衍生物、以及任选的维生素 E 和/或其衍生物、和维生素 A 和/或其衍生物，和/或从植物，如向日葵和洋常春藤中提取的油，和/或植酸，如从米糠中提取的植酸的混合物组成。

从这方面看，本发明涉及还含有维生素 E 和/或其一种或多种衍

生物、或维生素 A 和/或其一种或多种衍生物的上述皮肤病用和美容用组合物。

本发明还涉及本发明组合物的局部或外部敷用，和通过将有效量的其中一种上述组合物局部敷于皮肤上，为需要治疗的哺乳动物体治疗皮肤衰老症状，以及防止暴露于空气污染中的不利作用的方法。
5

本发明还涉及其中一种上述组合物作为药物的用途，以及本发明组合物在制备用于治疗皮肤衰老症状和用于防止暴露于空气污染中的不利作用的药物中的用途。

通过下面的描述并参考其中的附图，可更清楚地了解本发明的其它优点和特征。
10

附图 1 给出了甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯 (Algisiun C) 的抗糖基化活性，

附图 2 给出了水解小麦蛋白的提取物 (Integrissyme) 的抗糖基化活性，

附图 3 给出了甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯 (Algisiun C) 和水解小麦蛋白的提取物 (Integrissyme) 的混合物的抗糖基化活性，
15

附图 4 给出了各种皮肤病用组合物对胶原合成的影响，其中所述胶原是由人成纤维细胞培养物产生的，

附图 5 给出了各种皮肤病用组合物对胶原糖基化的影响，其中所述胶原是由人成纤维细胞培养物产生的。
20

发明详述

甲基化硅烷醇衍生物

有一些化合物可用作甲基化硅烷醇衍生物，其包括下述化合物，但并不只限于下面列举的实例

25 甘露糖醛酸钠甲基硅烷醇 (Algisiun, Exsymol)

甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯 (Algisiun C®, Exsymol)

甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯尼龙-12 (Algisiun C powder®, Exsymol)

抗坏血酸基甲基硅烷醇 (Ascorbosilane concentrate C®, Exsymol)

抗坏血酸基甲基硅烷醇果胶酸酯 (Ascorbosilane C®, Exsymol)

30 二甲基氧代苯并二氧硅烷 (DSBC®, Exsymol)

二甲基氧代苯并二氧硅烷尼龙-12 (DSBC powder®, Exsymol)

透明质酸钠二甲基硅烷醇 (DSH®, Exsymol)

二甲基硅烷醇透明质酸酯 (DSHC[®], Exsymol)
甲基硅烷醇甘草酸酯 (Glysinl[®], Exsymol)
甲基硅烷醇羟脯氨酸 (Hydroxyprolisilane[®], Exsymol)
甲基硅烷醇羟脯氨酸天冬氨酸酯 (Hydroxyprolisilane C[®],
5 Exsymol)
乳酸钠甲基硅烷醇 (Lasilium[®], Exsymol)
乳酰基甲基硅烷醇弹性蛋白酯 (elastinate) (Lasilium C[®],
Exsymol)
二油酰基生育酰基甲基硅烷醇 (Liposiliol C[®], Exsymol)
10 甲基硅烷醇乙酰基甲二磺酸酯 (Methiosilane[®], Exsymol)
乙酰基甲二磺酰基甲基硅烷醇弹性蛋白酯 (Methiosilane C[®],
Exsymol)
甲基硅烷醇 PEG 7 甘油基可可酸酯 (Monosiliol[®], Exsymol)
甲基硅烷醇三 PEG 7 甘油基可可酸酯 (Monosiliol C[®], Exsymol)
15 甲基硅烷醇弹性蛋白酯 (Proteosilane C[®], Exsymol)
吡咯烷酮羧酸酯苛性甲基硅烷醇 (Silhydrate[®], Exsymol)
吡咯烷酮羧酸铜甲基硅烷醇 (Silhydrate C[®], Exsymol)
甲基硅烷醇羧甲基茶叶碱 (Theophyllisilane[®], Exsymol)
甲基硅烷醇羧甲基茶叶碱藻酸盐 (Theophyllisilane C[®], Exsymol)
20 甲基硅烷醇乙酰酪氨酸 (Tyrosilane[®], Exsymol) 或
乙酰酪氨酸铜甲基硅烷醇 (Tyrosilane C[®], Exsymol).

在本发明中，优选的甲基化硅烷醇衍生物是甘露糖醛酸钠甲基硅烷醇，甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯，抗坏血酸基甲基硅烷醇，抗坏血酸基甲基硅烷醇果胶酸酯，甲基硅烷醇羟脯氨酸，甲基硅烷醇羟脯氨酸天冬氨酸酯，或甲基硅烷醇乙酰酪氨酸。

特别优选的甲基硅烷醇衍生物是甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯。

上述甲基硅烷醇衍生物可从所列的公司中购得。例如甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯可按照其商品名 Algisiu^m C 从 Exsymol 中购得。此市售产品是含有 1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯的水溶液。

按本发明组合物的总重量计，可用在本发明组合物中的含有甲基化硅烷醇衍生物的市售产品在组合物的含量通常为 1% - 20%，优选 2% - 7%。因此，组合物将含有 0.01% - 0.2%，优选 0.02% - 0.07

%的甲基化硅烷醇衍生物。

水解植物蛋白衍生物

一些水解植物蛋白衍生物，尤其是得自谷类植物（例如大麦、小麦、燕麦）的水解植物蛋白的衍生物可与甲基化硅烷醇衍生物一起使用，以形成本发明的组合物。本领域技术人员可容易地选择这类衍生物。这些产物包括用酶水解的小麦蛋白的提取物，并含有不同分子量的两类肽。

合适的水解植物蛋白衍生物可从市场上购得。例如，水解小麦蛋白衍生物可按照商品名 Integrissyme 从市场中购得。此市售产品是含有水解小麦蛋白（20%）、聚山梨醇酯 20（5%）和甘油（5%）的水配制物。

按本发明组合物的总重量计，含有水解植物蛋白的市售产品在组合物中的含量通常为 0.25% - 5%，优选 0.5% - 3%。因此，组合物将含有 0.05% - 1%、优选 0.1% - 0.6% 的水解植物蛋白。

维生素 C

维生素 C 和其衍生物对胶原的细胞外合成和分泌具有影响。在此过程中，维生素 C 具有两个主要功能：

（1）维生素 C 是赖氨酰羟化酶和脯氨酰羟化酶的辅因子，这两种酶对于倾向于引发细胞外分泌的原胶原进行羟基化反应起重要作用（Freiberger 等人 1980, Murad 等人 1981 和 1983, Tajima 和 Pinnell 1982）。

（2）维生素 C 控制位于不同染色体上的三个基因（ $proa_1$, $proa_2$ 和 $proa_3$ ）的复制（Pinnell 等人 1987），以启动胶原生物合成。

将维生素 C 及其衍生物（例如抗坏血酸磷酸镁）加到本发明组合物中可进一步加强抗糖基化剂，以改进抗衰老方法，因为使用这些化合物能刺激结缔组织中胶原的合成，同时还防止胶原进行非酶糖基化。

通过体外生化试验和细胞培养试验已证实，上述化合物，尤其是甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯、水解植物蛋白、和任选的抗坏血酸磷酸镁的混合物，在水溶液或膏霜中以有效量使用能治疗皮肤衰老症状。

水解的维生素 C 或抗坏血酸可从植物中提取或通过化学合成得到。其具有相当强的还原能力，并且在水溶液中，在氧分子、碱、金

属存在下以及在一定的 PH 条件下易于氧化。这就是当维生素 C 以其分子形式使用时，优选在酸性 PH 条件下、即优选在 PH 为 2.5-4 的条件下使用的原因。

此外，也存在更稳定的维生素 C 衍生物，例如抗坏血酸盐或抗坏血酸酯以及维生素 C 的胶囊形式：抗坏血酸镁 (Vitacedone[®] UCIB) 或抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG[®], Jan Dekker) 或抗坏血酸硫酸二钠 (Nikkol VC-SS[®], Jan Dekker) 或抗坏血酸棕榈酸酯或抗坏血酸多肽 (Vitazyme C[®] Brooks) 或抗坏血酸甲基硅烷醇果胶酸酯 (Ascorbosilane C[®], Exsymol) 或其壁由角叉菜胶制成的胶囊中的维生素 C 所形成的微球 (Lipotec)，或其壁由发育不全胶原制成的 (atelocollagen) 胶囊中的抗坏血酸磷酸镁所形成的微球 (Thallaspheres Coletica)。例如如果使用抗坏血酸磷酸镁时，为了使此化合物在水介质中稳定，水相的 PH 优选为 7-8。

至少一种上述形式的维生素 C 或其衍生物或其胶囊形式在水溶液或膏霜中以 0.25% - 30% 的量使用时是有效的。如果有两种或两种以上不同形式的维生素 C 一起使用，则按照组合物总重量计，这类化合物的总浓度优选不超过 20%。

植物提取物

从中可得到合适的油的植物包括向日葵和洋常春藤。植酸可从米糠中提取到。本发明组合物可含有 0.005% - 0.05%、优选 0.01% - 0.04% 的从向日葵中提取的油、从洋常春藤中提取的油和从米糠中提取到植酸，其中所述百分比是上述三类提取物分别在组合物中各自的含量。含有向日葵提取物 (3%)、洋常春藤提取物 (2%)、从米糠中提取的植酸 (2%)、甘油 (40%)、PEG-8 (15%)、辛酰乙二醇 (4.5%)、PPG-1/PEG-8/月桂基二醇醚 (3%)、丁二醇 (3%) 和聚丙烯酸钠 (0.5%) 的含水组合物可按照商品名 Osmopur 从 Sederma 购得。按本发明组合物总重量计，此市售组合物可以 0.5% - 2%、优选约 1% 的含量在本发明组合物中使用。

寡肽及其衍生物

寡肽及其衍生物优选为棕榈酰寡肽。棕榈酰寡肽例如从下述市售材料中获取：

含有甘油聚甲基丙烯酸酯、丙二醇和其中寡肽是甘氨酸、组氨酸

和赖氨酸部分组成的棕榈酰寡肽的 Biopeptide CL (Sederma) ,
含有甘油聚甲基丙烯酸酯、丁二醇和其中寡肽是精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸和丝氨酸部分组成的棕榈酰寡肽的 Biopeptide FN (Sederma) ,

5 Amadorine (Solavia) , 它是由精氨酸和赖氨酸部分组成的多肽,
Citogard (Pentapharm) , 它是酵母菌属产生的多肽.

按本发明组合物的总重量计, 可加到本发明组合物中的这类市售产品 (例如 Biopeptide CL) 在组合物中的含量通常为 1% - 20% , 优选为 2% - 7% .

10 维生素 E

维生素 E 及其衍生物能以多种形式使用, 其选择对于本领域技术人员来说没有任何困难. 例如, DL-生育酚或生育酚乙酸酯是优选的.

按本发明组合物的总重量计, 维生素 E 在本发明组合物中的浓度通常为 0.05% - 2% .

15 维生素 A

维生素 A 及其衍生物能以多种形式使用, 其选择对于本领域技术人员来说没有任何困难. 例如, 视黄醇、乙酸视黄酯或棕榈酸视黄酯是优选的.

按本发明组合物的总重量计, 维生素 A 在本发明组合物中的浓度通常为 0.02% - 1% .

组合物的制剂

上述化合物的混合物可优选加到油包水乳液 (包括硅油包水乳液) 、水包油乳液或复合型水包油包水乳液或假乳液 (用增稠剂使两种不混溶相, 即油相和水相形成分散体) 中.

25 本发明组合物优选呈油包水乳液、水包油乳液、或复合型水包油包水乳液或假乳液的形式. 这类乳液或假乳液可含有下述材料:

(a) 油相:

本发明乳液的油相可含有, 例如: 烃类油, 如石蜡或矿物油, 如异十六烷, 天然油, 如向日葵油、报春花油、西蒙得木油、氢化蓖麻子油、鳄梨油或氢化棕榈油, 天然甘油三酯如辛酸/癸酸甘油三酯、辛酸/癸酸/亚油酸甘油三酯、或辛酸/癸酸/琥珀酸甘油三酯, 硅油, 如聚环甲硅氧烷、聚二甲硅氧烷或聚二甲硅氧烷醇, 脂肪酸酯, 如肉

豆蔻酸十四酯或肉豆蔻酸异丙酯，脂肪醇，如十六烷醇或十八烷醇，蜡，如蜂蜡、石蜡、巴西棕榈蜡或地蜡，羊毛脂及其衍生物（油、醇、蜡），或其混合物。

在特别优选的含有本发明组分的油包水乳液或水包油乳液或其它介质中，按所有组分的总重量计，油相占约 5% - 约 30%，优选约 10% - 约 20%。

(b) 乳化剂

可用在本发明组合物中的乳化剂可选自本领域已知并能用于油包水或水包油乳液中的乳化剂。

10 油包水和水包油组合物可用包括下述乳化剂在内的化妆品适用乳化剂制备：

倍半油酸酯，例如脱水山梨醇倍半油酸酯，

以硅油为基础的乳化剂，例如硅氧烷多醇，

脱水山梨醇酯和乙氧基化脱水山梨醇酯，例如脱水山梨醇硬脂酸酯或 15 聚山梨酯，

甘油酯，例如甘油硬脂酸酯或甘油异硬脂酸酯，

蔗糖酯，例如蔗糖可可酸酯和蔗糖二硬脂酸酯，

乙氧基化脂肪醇，例如乙氧基化十六烷醇或乙氧基化十八烷醇，

乙氧基化大豆甾醇，或前面所述乳化剂的混合物。

20 按下述组合物的重量计，可存在于水包油、油包水组合物中的乳化剂在组合物中的含量优选为约 0.5% - 约 15%。按下述组合物的重量计，可存在于本发明复合型水包油包水乳液中的乳化剂在组合物中的含量为约 7% - 约 20%。

(c) 制剂中的其它组分

25 本发明组合物还可以含有本领域技术人员已知的一种或多种其它化合物，例如：

用于稳定乳液的电解质，例如氯化钠或硫酸镁或柠檬酸钠，按所述组合物的重量计，其含量优选为约 0.2% - 约 4%，

30 湿润剂，例如甘油、丙二醇、聚乙二醇 (PEG) 或山梨醇，按所述组合物的重量计，其含量优选为约 1% - 约 10%，

增稠剂，例如黄原胶，纤维素衍生物，卡波姆，丙烯酸共聚物，树胶硬化剂 (sclerosium)，按所述组合物的重量计，其含量优选为

约 0.05% - 约 1%.

螯合剂, 例如 EDTA 四钠, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.01% - 约 0.5%,

5 软化剂, 例如脂肪酸醚或脂肪酸酯, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.5% - 约 10%,

水合剂, 例如 D-泛醇, 透明质酸, 吡咯烷酮羧酸钠, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.01% - 约 5%,

促进组合物在皮肤表面展开的成膜剂, 例如聚甲基丙烯酸酯, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.05% - 约 3%,

10 有机阳光阻隔剂, 例如甲氧基肉桂酸辛酯, 丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷, 甲氧基肉桂酸异戊酯, 辛基二甲基 PABA, 水杨酸辛酯, 二苯酮 3, 辛基三嗪酮, 4-聚乙氧基-5-氨基苯甲酸乙酯, 异丙基 4-二苯甲酰基甲烷, 2-苯基苯并咪唑-5-磷酸, 2-羟基-4-甲氧基二苯酮-5-磷酸, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.5% - 约 5%,

15 不溶颜料, 例如二氧化钛, 金红石二氧化钛, 锐锥石型二氧化钛,

无机防晒剂, 例如热解微粉二氧化钛, 如 P 25[®]、Degussa, 微粉二氧化钛, 如 Sun Veil[®] 1keda, 表面用硅氧烷、或氨基酸、或卵磷脂、或硬脂酸金属盐处理过的微粉二氧化钛, 微粉氧化铁, 表面用硅氧烷、或氨基酸、或卵磷脂、或硬脂酸金属盐处理过的氧化铁, 氧化锌, 微粉氧化锌, 如 UFZ0[®] (Cosmo Trends 公司), 表面涂敷有二氧化钛的云母, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.5% - 约 5%,

20 防腐剂, 例如对羟基苯甲酸甲酯, 对羟基苯甲酸丙酯, 苯氧基乙醇, 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇或其混合物, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.05% - 约 3%,

25 香料, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为约 0.05% - 约 0.6%,

着色剂, 按所述组合物的重量计, 其含量优选为微量 - 约 3×10^{-3} %,

30 或其混合物。

通过下述实施例来举例说明本发明, 这些实施例仅仅是举例性的。在下述实施例中, 每一组分的量都以按组合物总重量计算的百分

比表示。

实施例 1：晚霜（硅油包水乳剂）

表 1

5 油相的组成

	<u>成分</u>	<u>%</u>
	聚环甲硅氧烷	5
	聚环甲硅氧烷/二甲硅氧烷共聚多醇	10
	聚二甲硅氧烷和聚二甲硅氧烷醇	5
10	PPG-3 的十四烷基醚	1.5
	生育酚乙酸酯	0.5
	棕榈酸视黄酯（注释 1）	0.15
	二十二烷酸酯的聚二甲硅氧烷	1

15 表 2

水相的组成

	<u>成分</u>	<u>%</u>
	EDTA 四钠	0.05
	氯化钠	0.8
20	甘油	5
	PEG-8	1.5
	对羟基苯甲酸甲酯	0.25
	对羟基苯甲酸丙酯	0.15
	苯氧基乙醇	1
25	抗坏血酸磷酸镁（注释 2）（Nikkol VC-PMG）	1
	含有水解小麦蛋白（20%）、聚山梨醇酯 20（5%）	
	和甘油（5%）的水配制物（注释 2）（Integrissyme）	0.5
	1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯水溶液	
	（注释 2）（Algisiun C）	3
30	Red FD&C No. 40	1.5×10^{-3}
	香料（注释 2）	0.15
	水	适量

表 1 和 2 的注释

(1) 为了防止棕榈酸视黄酯氧化, 优选不将其与油相中的其它化合物一起加热。优选在开始乳化时将棕榈酸视黄酯加到油相中。

5 (2) 热敏化合物

除上述热敏化合物外, 将油相和水相各自加热到 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 。然后用微涡型搅拌器 (Rayneri[®], 法国) 在剧烈搅拌下把二者混合。以恒定速度维持搅拌, 直到乳液的温度降至 30°C 为止。在此阶段, 降低匀化速度, 加入热敏成分。继续乳化直到膏霜完全均匀为止。

10

实施例 2: 日霜 (复合型水包油包水乳剂)

表 3

初始乳液的组成

	<u>成分</u>	<u>%</u>
15	<u>油相</u>	
	异十六烷	2
	十六烷基辛酸酯	5
	聚环甲硅氧烷	3.5
	十六烷基二甲硅氧烷共聚多醇	4.2
20	甲氧基肉桂酸辛酯	2
	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷	0.5
	生育酚乙酸酯	0.5
	棕榈酸视黄酯	0.15
25	<u>水相</u>	
	柠檬酸钠	0.4
	硫酸镁	0.5
	EDTA 四钠	0.1
	黄原胶	0.1
30	抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG)	1
	泛醇	1
	丙二醇	2.5

PEG-8	2
对羟基苯甲酸甲酯	0.2
对羟基苯甲酸丙酯	0.1
2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇	0.05
5 香料	0.15
水	44

表 4
外水相的组成

10	成分	%
	透明质酸钠	0.03
PEG-8	2	
	对羟基苯甲酸甲酯	0.2
	对羟基苯甲酸丙酯	0.1
15	2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇	0.05
	聚甘油异丁烯酸酯/丙二醇/PVM/MA 共聚物	5
	Red FD&C No. 40	1.5×10^{-3}
	Ceteth-20	2.1
	大豆甾醇 PEG-25	0.9
20	1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯水溶液 (Algisiun C)	3
	含有水解小麦蛋白 (20%)、聚山梨醇酯 20 (5%) 和甘油 (5%) 的水配制物 (Integrissyme)	0.5
	聚异丁烯酸甲酯	0.8
25	水	适量

使用两步乳化法 (如以前在 Tokgoz1996 中所描述的两步乳化法) 制备此复合型乳剂。在此方法中, 先制备初始油包水乳液, 然后把此乳液分散到含有亲水性乳化剂、增稠剂、活性剂以及其它成分的外水相中。在制备初始油包水乳液的第一步乳化过程中, 按照实施例 1 的方法将各相 (油相和水相) 加热和混合。然而, 在第二步, 初始乳液在室温以及速度很慢的搅拌下逐滴地加入到外相中 (加入时间 = 20 分钟) (均化时间 = 10 分钟)。

实施例 3: 日霜 (含有液晶相的水包油乳剂)表 5油相的组成

	<u>成分</u>	<u>%</u>
5	聚环甲硅氧烷	5
	丁二酸二辛酯	3
	聚丙烯酰胺 (45%) / C13, C14 异链烷烃 (25%) /	
	laureth-7 (8%) (Sepigel 305)	3
10	氢化卵磷脂	2
	生育酚乙酸酯	0.5
	棕榈酸视黄酯	0.15
	棕榈酸	1
	C12, C16 醇	1
15		

表 6水相的组成

	<u>成分</u>	<u>%</u>
20	尼龙-12	2
	树胶 Sclerotium	0.3
	EDTA 四钠	0.05
	PEG-8	1.5
	对羟基苯甲酸甲酯	0.25
	对羟基苯甲酸丙酯	0.15
25	邻异丙基苯甲烷-5-酚	0.1
	抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG)	1
	含有水解小麦蛋白 (20%)、聚山梨醇酯 20 (5%)	
	和甘油 (5%) 的水配制物 (Integrissyme)	0.5
	1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯水溶液	
30	(Algisiun C)	3
	Red FD&C No. 40	1.5×10^{-3}
	香料	0.40

水

适量

使用与实施例 1 相同的制备方法。

实施例 4: 溶液 (水包油乳剂)

5 表 7

油相的组成成分

		%
	异十六烷	8
	矿物油	5
10	脱水山梨醇硬脂酸酯	2
	Ceteth 20	2
	生育酚乙酸酯	0.5
	棕榈酸视黄酯	0.15
	聚环甲硅氧烷	1
15	十六烷醇	0.5

表 8

油相的组成成分

		%
20	甘油	5
	丙二醇	5
	对羟基苯甲酸甲酯	0.25
	对羟基苯甲酸丙酯	0.15
	卡波姆钠	0.35
25	抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG)	1
	含有水解小麦蛋白 (20%)、聚山梨醇酯 20 (5%)	
	和甘油 (5%) 的水配制物 (Integrissyme)	0.5
	1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯水溶液	
	(Algisiun C)	3
30	Red FD&C No. 40	1.5×10^{-3}
	香料	0.15
	水	适量

使用与实施例 1 相同的制备方法。

实施例 5：日霜（不含乳化剂的水包油乳剂）

表 9

5 油相的组成

	成分	%
	异十六烷	15
	肉豆蔻酸十四酯	3
	蜂蜡	1.5
10	角鲨烷	0.075
	二氧化钛	1
	生育酚乙酸酯	0.5
	棕榈酸视黄酯	0.15
	大豆甾醇	0.5
15	澳洲坚果油	0.2
	聚环甲硅氧烷	1
	十六烷醇	0.5

表 10

20 水相的组成

	成分	%
	聚甘油异丁烯酸酯	4.8
	丙二醇	0.12
	PEG-8	3
25	对羟基苯甲酸甲酯	0.25
	对羟基苯甲酸丙酯	0.15
	邻异丙基苯甲烷-5-酚	0.1
	2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇	0.05
	EDTA 四钠	0.05
30	卡波姆钠	0.35
	抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG)	1
	含有水解小麦蛋白 (20%)、聚山梨醇酯 20 (5%)	

和甘油 (5%) 的水配制物 (Integrissyme)	0.5
1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯水溶液 (Algisiun C)	3
Red FD&C No. 40	1.5×10^{-3}
5 香料	0.15
水	适量

使用与实施例 1 相同的制备方法。

实施例 6:

10 表 11

油相的组成

成分	%
辛酸/癸酸甘油三酯	3
鲸蜡烯基辛酸酯 (Cetearyl octanoate)	4
15 硬脂酸	1.5
十六烷醇	1
甘油硬脂酸酯	2
聚环甲硅氧烷	2
生育酚乙酸酯	0.5
20 棕榈酸视黄酯	0.15
PEG-10 大豆甾醇	1
蜂蜡 (白蜂蜡)	1.2
十六烷基棕榈酸酯	3

25 表 12

水相的组成

成分	%
EDTA 四钠	0.05
甲基 gluceth-20	3
30 Glycereth-26	2
丙烯酸酯/C10-30 烷基丙烯酸酯交联聚合物 (Pemutent TRI)	0.2
生物糖树胶-1 (Fucogel 1000 pp)	5

PEG-8	1.5
对羟基苯甲酸甲酯	0.3
对羟基苯甲酸丙酯	0.2
邻异丙基苯甲烷-5-酚	0.1
5 苯氧基乙醇	0.90
透明质酸钠	0.1
氢氧化钠	0.22
抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG)	1
甘油	3
10 含有水解小麦蛋白 (20%)、聚山梨醇酯 20 (5%) 和甘油 (5%) 的水配制物 (Integrissyme)	0.5
1% 的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯水溶液 (Algisiun C)	3
含有甘油 (40%)、PEG-18 (15%)、辛酰乙二醇 (4.5%)、向日葵提取物 (3%)、PPG-1-PEG-9-月桂基 乙二醇醚 (3%)、丁二醇 (3%)、洋常春藤提取物 (2%)、 从米糠中提取的植酸 (2%) 和聚丙烯酸酯 (0.5%) (Osmopur) 的水制备物	1
15 香料	适量
20 水	适量

使用与实施例 1 相同的制备方法。

体外糖基化抑制作用试验

将甲基化硅烷醇衍生物 (Algisiun C[®])、水解小麦蛋白和含有这些衍生物的本发明组合物进行一系列体外生化分析来测定其效力。所用的试验方案是在文献 (Rosenberg 等人 1979, Schinder 和 Kohn 1980) 中记载的，并且是设计成在实验室条件下诱导蛋白的非酶糖基化的简单试验。

所进行的体外分析包括，在 37°C、磷酸盐缓冲液 (PH 为 7.4) 中将牛血清白蛋白 (BSA) 和 D-葡萄糖以及活性化合物样本培养 3 周。培养后使 BSA 交联。一旦糖基化，将 BSA 进行酸性水解反应，以释放 5-羟甲基糠醛 (HMF) 的反应性羰基。沉淀后，将 BSA 从培养基中除

去，加入硫代巴比土酸（TBA）以进行着色反应，来测定与糖基化蛋白的量成比例的胺/己糖键的数量。这些有效的抗糖基化化合物减少了培养基中游离 HMF 的量，也就是说减少了糖基化的量。

这些试验结果在附图 1-3 中给出。在这些附图中，糖基化百分比被表示为所用活性化合物浓度的函数。对于附图 1，活性物质是单独使用的甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯（Algisiun C）。对于附图 2，活性物质是单独使用的水解小麦蛋白提取物（Integrissyme）。附图 3 给出的是用下述组合物获得的结果：仅含有甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯（Algisiun C，浓度为 3%）作为活性成分的组合物，或仅含有水解小麦蛋白提取物（Integrissyme，浓度为 0.5%）作为活性成分的组合物，或含有甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯（Algisiun C，浓度为 3%）和水解小麦蛋白提取物（Integrissyme，浓度为 0.5%）的混合物的组合物。

如图 1、2 和 3 所示，如本申请所描述的两种抗糖基化剂联合使用时，看上去比使用大量的但其中仅一种化合物时能更有效地阻止糖基化作用。

实际上，当单独测试时，水解小麦蛋白提取物（Integrissyme[®]）抗糖基化作用的活性看上去比甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯（Algisiun C[®]）要高。用 Algisiun C[®] 测试时，只有当浓度高于 7% 时，才能使糖基化作用有明显下降。当以 3% 的浓度使用时，经证明 Algisiun C[®] 是无效的。Algisiun C[®] (3%) 与 Integrissyme[®] (0.5%) 的混合物使培养基中游离 HMF 的数量明显减少。

本发明组合物对体内胶原合成的影响

用人成纤维细胞，评价本发明组合物（含有两种抗糖基化剂和抗坏血酸磷酸镁）在体内刺激胶原合成以及限制胶原纤维之间形成不可逆交联的作用。

所用细胞是第四代（R4）正常的人成纤维细胞（NHDF 784），所述细胞是于 37°C、5% 的 CO₂ 大气中在下述培养基中培养的：MEM/M 199, 3/1 (Gibco 31570021/2115130)，碳酸氢钠 (Gibco 25080060) 1.87 mg/ml, L-谷氨酰胺 (Gibco 25030024) 2 mmol/l, 青霉素 (Polylabo 60703) 50 U1/ml, 和胎牛血清 (v/v Gibco 10106151) 10 %。

在无菌培养基中制备下述 6 种制剂：

制剂 1：维生素 C (1 mg/ml) (Vit-C) ,

制剂 2：抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG, 1%)

制剂 3：D-葡萄糖 (1%)

5 制剂 4：抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG, 1%) + 甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯 (Algisiun C, 3%) (混合物 1)

制剂 5：抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG, 1%) + 水解小麦蛋白 (Integrissyme, 0.5%) (混合物 2)

10 制剂 6：抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG, 1%) + 甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯 (Algisiun C, 3%) + 水解小麦蛋白 (Integrissyme, 0.5%) (混合物 3)

将成纤维细胞以 9×10^4 个细胞/井的数量分配在具有 12 个井的 4 个培养皿中 (两个培养皿用于合成胶原, 另两个培养皿用于糖基化), 并在分布产物之前培养 24 小时 (> 80% 融合) .

15 用上述在无菌培养基中制备的储备溶液把本项试验所用的混合物稀释 40 倍. 根据预先试验, 它们是非细胞毒性剂量. 维生素 C 以 $20 \mu\text{g/ml}$ ($113 \mu\text{mol/l}$) 的终浓度进行测试. 此浓度是体外刺激前胶原合成的最佳浓度 (Freiberger 等人 1980). 葡萄糖以 0.1% 的终浓度进行测试, 此浓度是培养基中 “冷” 葡萄糖浓度的 2 倍. 每一试验条件都以一式三份进行 (3 个培养井). 对照井中仅放入 1.2 ml 培养基.

20 培养 72 小时, 其中每 24 小时间隔更换试验培养基. 在最后 24 小时, 用 $40 \mu\text{Ci}/\text{井}$ ($33.3 \mu\text{Ci/ml}$) 的 L-[$2, 3\text{-}^3\text{H}$]-脯氨酸、 $44 \text{Ci}/\text{mmol}$ ($16.3 \text{ TBq}/\text{mmol}$, Amersham, TRK628) 或 D-[$5\text{-}^3\text{H}$]-葡萄糖、 $14.3 \text{ Ci}/\text{mmol}$ ($503 \text{ GBq}/\text{mmol}$, Amersham, TRK290) 进行代谢标记.

25 在培养结束时, 将含有培养基的培养皿进行冷冻/解冻循环处理. 对每一井中的培养基取样 (1.2 ml), 用 1 ml 冰水将每一井洗涤两次. 把每一井中的培养基和洗涤液合并在一起. 其含有游离的放射活性物, 该放射活性物结合在可溶性细胞和细胞外蛋白中. 将含有不溶物质的每一井的底部再次洗涤, 把培养皿置于冰中贮藏. 加入 0.3 体积 10% (w/v) 的三氯乙酸 (TCA) 使溶解部分的蛋白沉淀出来, 然后用 3% 的 TCA 洗涤两次 (除去游离放射活性物). 通过在 42 各

柱 (Micro-spin G-25, Pharmacia) 上离心将蛋白纯化. 此项处理是为了除去任何残留的游离放射性物, 以及除去样本中存在的 TCA(胶原酶抑制剂).

用 5 单位超纯胶原酶 (Sigma, C0775), 在 Tris-HCl 50 mmol/l、
5 CaCl₂ 5 mmol/l 的缓冲液 (终浓度) 中, 于 37°C 将可溶性和不溶性蛋白样本消化 3 小时. 相对于中性蛋白酶活性 (酪蛋白酶) 0.2 单位 /mg, 所用胶原酶含有 1390 胶原酶单位 /mg. 把样本分成等分试样来计数结合在蛋白中的放射活性物, 用 TCA 进行最后一次沉淀, 来将被胶原酶 (由胶原起源) 消化的物质从对胶原酶不敏感的物质中分离出.
10 在 LKB 1211 Rackbeta 计数器上, 通过可溶性/不溶性蛋白片断积聚后的液体闪烁, 来计数结合的放射活性物量.

这些试验结果表明, 两种抗糖基化剂 ((Algisiun C[®] 和 Integrissyme[®]) 和抗坏血酸磷酸镁的组合物能非常显著地增加新胶原分子的合成, 也就是在新合成的胶原分子中掺入了放射标记的脯氨酸 (附图 4). 此外, 在介质中新胶原分子合成的增加并不伴有糖基化胶原的增加, 即胶原基体中放射标记的葡萄糖的掺入未增加 (附图 5).

从图 4 中可看出, 维生素 C (单独)、抗坏血酸磷酸镁 (单独)、混合物 2 和混合物 3 刺激了胶原的合成, 也就是说, 在新合成的胶原 20 中放射标记的脯氨酸的量有显著增加. 用这两种抗糖基化剂和抗坏血酸磷酸镁的组合物 (混合物 3) 获得了最佳结果.

相反, 混合物 1 对刺激胶原合成没有任何实际作用, 并且会使胶原之间形成的不可逆交联数量增加 (附图 5). 优选混合有抗坏血酸磷酸镁的两种抗糖基化剂的协同作用可以解释这些结果.

25 最后, 由混合物 3 诱导的胶原新合成并不伴有糖基化速度增加. 换句话说, 不同量的胶原其糖基化速度保持相同. 此外, 严格来说, 混合物 3 并不抑制糖基化作用, 因此, 我们可以推断, 混合物 3 对胶原的新合成有重要作用并且能控制 (限制) 糖基化作用.

本发明组合物的抗污染活性

30 下述试验证实了本发明组合物的抗污染活性.

12 个年龄在 21-57 岁之间的女性志愿者参与了本项试验. 每一志愿者的前臂选择 3 块区域. 将实施例 6 产物以 2 μ l/cm² 的量涂敷

在第一区域。将与实施例 6 产物相类似的组合物以 $2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ 的量涂敷在第二区域，只是此组合物中不含有甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯 (Algisium C)、水解小麦蛋白 (Integrissyme)、抗坏血酸磷酸镁 (Nikkol VC-PMG) 或含有向日葵和洋常春藤提取物和植酸 (Osmopur) 的水配制物。第 3 块区域不处理。20 分钟后，将碳悬浮液以 $2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ 的量涂敷在每一块区域上。40 分钟后，将各区域用水洗涤，用纸手帕吸干，在空气中干燥。10 分钟后，用粘着带剥离每一区域以除去每一区域皮肤中残留的碳。然后将粘着带用视频显微镜检测以确定每一区域中碳残留的量。结果以保护百分比 P 表示，其中 P 通过下式计算：

$$P = [(ZNT - ZT) / ZNT] \times 100$$

其中，ZNT 是未处理区域中碳残留的量，ZT 是处理区域中碳残留的量。计算的所有志愿者第一区域 P 值的平均值为 74%，计算的第二区域 P 值的平均值是 57%。这些结果具有统计学显著意义（通过 15 Student t-试验， $p < 0.001$ ）。P 值越高，本发明组合物就能越有效地防止暴露于空气污染中的不利作用。

参考文献

20 Lehninger A. L “生物化学原理” (Principles of Biochemistry) Worth Publications Inc 3rd Edition, 1984

25 Cerami A., Vlassara H. and Brownlee M., “科学” (Pour la Science), July 72-79 (1987)

Brownlee M., Vlassara H., Kooney A., Ulrich P. and Cerami A., “科学” (Science), 6 月, 1629 - 1631 (1986)

Shin D. H., Hayase F. and Kato H., “农业生物化学” (Agric. Biol. Chem.), 52 1451 - 1458 (1988)

Igaki N., Yamada H., Oimomi M. and Kasuga M., “临床化学学

报” (Clinica Chimica Acta) , 199 113 - 116 (1991)

Freiberger H. , Grove D. , Sivarajah A. and Pinnell S. , “皮肤学研究” (J. Invest. Dermatol) , 75 425 - 430 (1980)

5

Murad S. , Sivarajah A- and Pinnell S. , “生物化学和生物物理研究通讯” (Biochem. Biophys. Res. Commun) , 101 868 - 875 (1981)

10 Murad S. , Tajima S. , Johnson G. R. , Sivarajah A. and Pinnell S. , “皮肤学研究” (J. Invest. Dermatol) , 81 158 - 162 (1983)

Pinnell S. , Murad S. and Darr D. , Arch. Dermatol. , 123 1684 - 1687 (1987)

15 Tokgoz N. S. , “Paris-Sud 大学药学博士论文集” (Doctoral Thesis in Pharmaceutical Sciences of the Universite de Paris-Sud) Paris XI, France, 1996

20 Rosenberg H. , Modrak J. B. , Hassing J. M. , Al-Turk W. A. and Stohs S. J. , “生物化学和生物物理研究通讯” (Biochem Biophys Res Commun) , 91 498 - 501 (1979)

Schinder S. L. and Kohn R. R. , “临床研究杂志” (J. Clin. Invest) , 66 1179 - 1181 (1980)

说 明 书 附 图

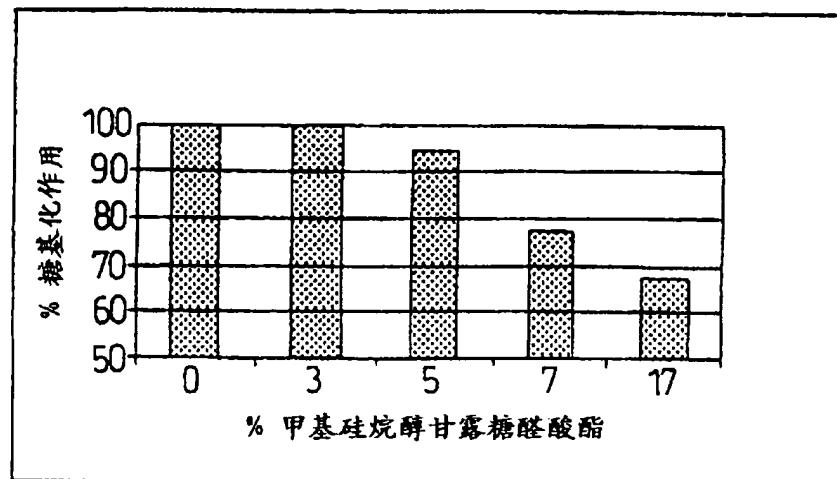


图 1

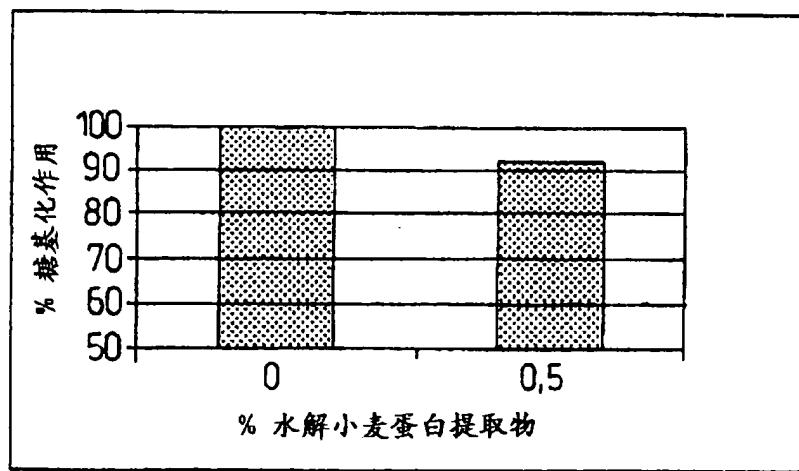


图 2

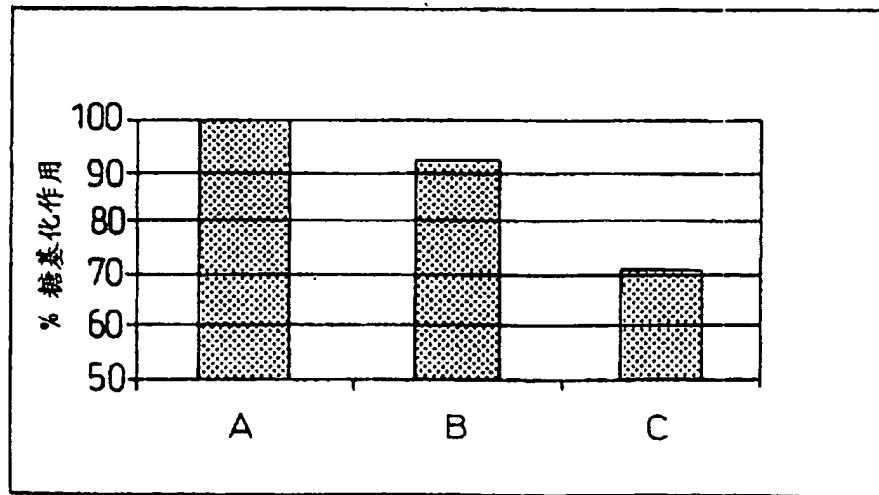


图 3

10.00

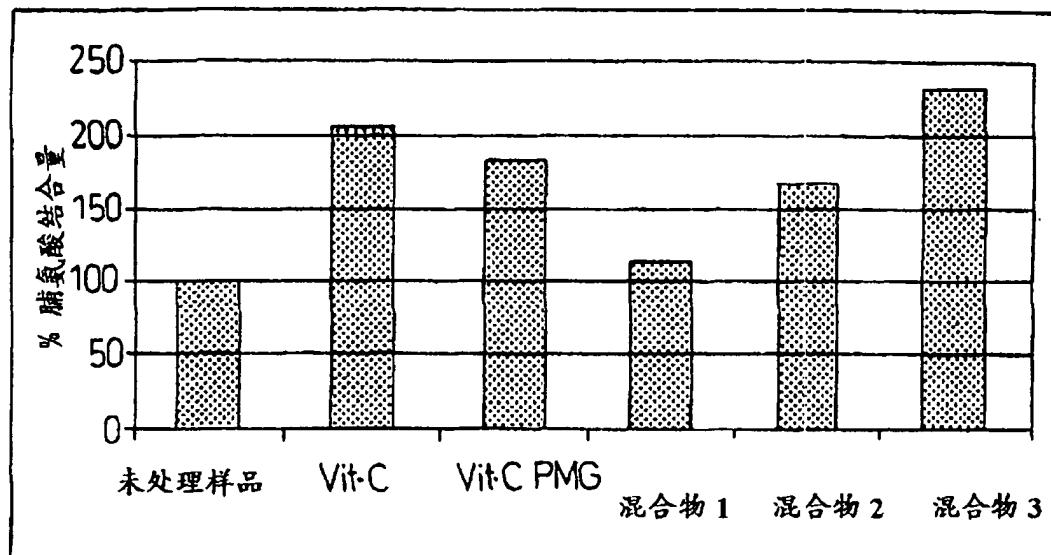


图 4

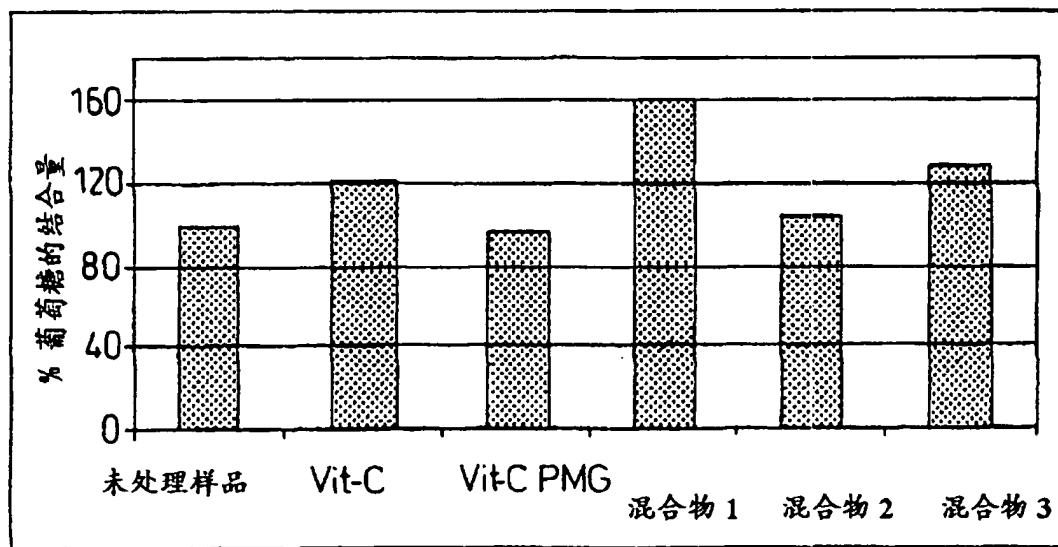


图 5